



TITLE:

B-70 ニホンザルにおけるサルT 細胞白血病ウイルスの動態の解析・免疫治療

AUTHOR(S):

松岡, 雅雄; 安永, 純一郎; 三浦, 未知; 菅田, 謙治

CITATION:

松岡, 雅雄 ...[et al]. B-70 ニホンザルにおけるサルT 細胞白血病ウイルスの動態の解析・免疫治療. 霊長類研究所年報 2013, 43: 110-111

ISSUE DATE:

2013-11-13

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/179838>

RIGHT:

B-66 野草の苦味・渋味成分含量とニホンザルの嗜好性との関連性について

小嶋道之(帯畜大・食品科学) 所内対応者：鈴木樹理

サルのご飯物は、季節を通して葉・花・実・樹皮・冬芽などの各部位を万遍なく利用するものもあれば、ニガキなどは一年のある時期にのみ、特定の部位；実を好物とするものもある。この原因として、苦味物質の含量が関係すると仮定してその含量を測定した。ニガキのポリフェノール量を測定したところ、花芽には 50.1~59.6 mg/g、葉は 41.0~48.8 mg/g、小枝の樹皮は 2.0~13.4 mg/g、種実は 1.1 mg/g であった。また、ニガキ葉に含まれるポリフェノール画分の 5ppm におけるアミラーゼ活性阻害は 41.9~52.9% であり、グルコシダーゼ阻害活性は 40.1~43.1% であった。また、それぞれの阻害様式を測定したところ、アミラーゼ阻害は競争阻害、グルコシダーゼ阻害は非競争阻害であった。苦味成分が消化酵素の活性に影響を及ぼす可能性が推察された。また、これまでに実際にニホンザルの苦味物質に対する嗜好性を複数回試みてきたが、基準のキニーネやカテキンを与えることさえ再現よく観察することは難しく、実験的に苦味物質を与えてニホンザルの嗜好性と苦味・渋味成分含量との関連を見出すことは簡単なことではない。

B-67 マカク属霊長類における感染症抵抗性の多型と表現型解析

安波道郎(長崎大・熱帯医学研究所) 所内対応者：平井啓久

東南アジアの Macaca 属分布域にはサルマラリアの流行が見られ、ヒト民族集団のゲノム進化での熱帯熱マラリア原虫の影響に似て、その種分化にサルマラリア流行が関与してきたと想像できる。実際、東南アジアに流行し、日本列島では見られないサルマラリア原虫 *Plasmodium coatneyi* は、流行地に棲息するカニクイザルでは感染後に宿主の防御系の働きによって自然に排除されるのに対して、自然界では触れることのないニホンザルへの実験感染では例外なく重症化し、抗原虫療法をしなければ致死的な経過をとることが知られている。前年度までに、B 細胞や樹状細胞等の免疫担当細胞に発現して、特定の配列モチーフをもつ 2 本鎖 DNA やマラリア原虫の宿主ヘモグロビン代謝産物であるマラリア色素(Hemozoin)を認識して炎症性細胞応答を惹起する Toll 様受容体 TLR9 遺伝子を、マラリア抵抗性の候補遺伝子と想定し、種間種内の遺伝子多様性を検討した。今年度は、獨協医大・川合寛博士より供与された、国内で繁殖したカニクイザル個体およびニホンザル個体、各 2 個体の *P.coatneyi* の実験感染時の経時的採血より調製した血漿検体を用いて、血漿中サイトカイン定量を実施した。数週間の経過で軽度の原虫血症が自然に制御されるカニクイザルでは TH2 サイトカインである IL4、IL13 の軽度上昇が見られたが、10 日前後で急速に高度原虫血症が進行するニホンザルではこれらの TH2 サイトカインの応答は見られず、重症症状の出現時に炎症性サイトカインである IL6、IL1ra、IL18 の急激な上昇が観察された(発表準備中)。

B-68 野生ニホンザル個体群の遺伝的交流に関する基礎研究

清野紘典(野生動物保護管理事務所) 所内対応者：川本芳

ニホンザルの保全および保護管理に資する情報を提供するため、地域個体群の孤立や群間交流といった個体群の多様性を定量的に評価する手法の検討をすすめてきた。昨年度まで、連続分布する個体群における 1 つの群れに焦点をあて、複数の標識遺伝子の空間分布とそれらが伝達される性質の違いについて検討してきた。本研究では、滋賀県南部に生息する野生ニホンザル 1 群からサンプリングした血液 130 サンプル中、96 サンプルについて常染色体マイクロサテライト DNA 分析を実施した。結果は現在解析中ではあるものの、遺伝子座あたりの対立遺伝子の数が多く、オスを介した遺伝子の群間交流が盛んであることが予想される。今後は、STRUCTURE 解析により周辺群を含めた地域個体群の構造解析を行う予定である。また、六波羅・鈴木ら(霊長研共同利用研究)が進める三重県の実験結果をまわって、近隣府県との遺伝的交流についても検討する予定である。

B-69 DNA analysis of White Headed Langur and feeding plants.

Yin Lijie, Qin Dagong, Yao Jinxian(北京大・生命科学学院) 所内対応者：今井啓雄

From 2012 to 2013, we collected 30 feces samples of white-headed langurs on March 2012 and 2013, from Nongguan hills, Guangxi, China. And 61 plants species that langurs eating or not were collected in March 2012. On March 2013, I have done DNA analysis of six feces samples of white-headed langurs under directing by Dr. Hiroo Imai at Peking University. We extracted and cloned DNA in feces from six samples and selected some samples to do DNA sequencing. We are currently doing the determination of reference sequences of plant samples living in our fields. We also plan to do 20-30 feces samples in 2013.

B-70 ニホンザルにおけるサル T 細胞白血病ウイルスの動態の解析・免疫治療

松岡雅雄, 安永純一郎, 三浦未知, 菅田謙治(京都大・ウイルス研) 所内対応者：明里宏文

H23-24 年度の解析により、霊長類研究所のニホンザル約 6 割に STLV-1 感染が判明した(347 頭/605 頭)。フローサイトメトリーによる解析では、CD4 T リンパ球に STLV-1 Tax 陽性分画が含まれ、CD4 T リンパ球に優位に感染することが判明した。感染細胞率は 0.001% から 53% と大きな個体差があり、次世代シーケンサーを用いた解析により、感染細胞のクローナルな増殖が感染細胞の拡大に重要な役割を果たすことが示唆された。研究期間中に STLV-1 感染ニホンザル 1 頭が脳に T リンパ腫を発症し、inverse-PCR および次世代シーケンサーでのクローナ

リテ解析により、STLV-1 感染細胞のモノクローナルな増殖が証明された。この症例から、STLV-1 がニホンザルに T 細胞性の悪性腫瘍を惹起することが示された。高プロウイルス量を呈した個体では CCR4 陽性細胞が増加しており、HTLV-1 感染細胞と同様に CCR4 が治療標的となりうると考えられた。そこで ATL に対して臨床応用されている抗 CCR4 抗体、モガムリズマブを STLV-1 感染ニホンザル 2 頭に投与したところ、感染細胞の有意な低下を認めた。この所見は、STLV-1 感染ニホンザルが HTLV-1 感染症の新規予防法や治療法の効果判定に極めて有用な霊長類モデルであることを示している。

B-71 マカク体色遺伝子の構造解析

山本博章, 大垣浩亮, 田端裕正(長浜バイオ大) 所内対応者: 川本芳

本研究は、マカク属毛色遺伝子群のアレル解析を行い、野生集団が示す体色を保証する遺伝子基盤を明らかにすることが主目的である。体色に関わる遺伝子座は実に多く、マウスでは約 400 遺伝子座に多くのアレルが記載され、その数は毎年増加している。本共同研究では、報告の少ないニホンザルの当該オルソログの塩基配列を、他のマカク属や(報告があればニホンザルの配列も参照して)ホ乳類の塩基配列を基に、まずは cDNA のコード領域(CDS)全領域の塩基配列について明らかにすることから始めた。先行研究時に貴研究所より分与されていた嵐山 1131(♀)皮膚片から調製したトータル RNA をもとに、いくつかの CDS 全長の配列を明らかにできたのでその一部を報告する。

1. Agouti signaling protein(ASIP)cDNA:マウスでは背腹の毛色の違いを説明できる遺伝子である。今回嵐山 1131 個体の 5' と 3' UTR および CDS 全長が判明した。すでに報告されていたニホンザルの CDS(のみ)とは 2 塩基の同義置換があった。カニクイザルとは塩基置換が認められなかった。またアカゲザルを含め、3 種間でのアミノ酸配列は同一であった。

2. RAB38:RAS オンコジーンファミリーの一員で、細胞内の小胞輸送に関与する当該因子の cDNA が得られた。マカク属ではアカゲザルの当該配列のみが報告されていたが、3' UTR 領域の 6 か所で塩基置換が認められた「のみ」である。チンパンジーとヒトとは S113T(嵐山 1131、アカゲザル)のアミノ酸置換 1 か所のみである。

3. PLDN:小胞輸送に関与する当該因子はカニクイザルとアカゲザルの配列が報告されていた。UTR および CDS において 3 種間で比較できる領域には、9 塩基の(連続してはいない)違いがあり、内 6 サイトはアカゲザルと、1 サイトはカニクイザルとそれぞれ同一であり、2 か所は嵐山 1131 に特異的なサイトであった。CDS 内の 2 サイトでの置換はすべて同義置換であった。

他の cDNA についても、CDS 全長に近い配列解析のできそうな遺伝子座が約 7、短い PCR 増幅産物が得られている 30 近くの遺伝子座があり、今後も解析を進める予定である。

B-72 ニホンザル関節受動抵抗特性のモデル化

荻原直道(慶應義塾大・理工・機械工) 所内対応者: 平崎鋭矢

ニホンザルの二足歩行は、ヒトのそれと比較して下肢が全体的に曲がった状態で行われる。これは、筋骨格系の形態・構造的制約により規定される下肢関節の可動特性が、両者で異なっていることに起因すると考えられるが、その詳細なメカニズムは十分明らかになっていない。そこで本研究では、ニホンザル新鮮屍体 1 体(オス・7.3kg)を用いて下肢筋骨格系の受動抵抗特性を計測し、そのモデル化を試みた。具体的には、股関節、膝関節、足関節の回転軸まわりにモーメントを作用させ、そのときの関節角度とモーメントの関係を計測した。モーメントは、遠位節に取り付けたひもを節に垂直に引っ張ることで作用させた。その大きさはデジタル手秤により計測した力の大きさにモーメントアーム長を乗ずることで求めた。そのときの関節角度は、角度計により計測した。その結果、ニホンザル後肢 3 関節の関節受動抵抗特性を、指数関数を用いて定量的に記述することが可能となった。また、股関節の関節可動特性を制約する筋を除去したときの関節角度とモーメントの関係も計測したところ、大腿筋膜張筋、腸腰筋、大腿直筋が股関節の伸展を制約する大きな要因となっていることが明らかとなった。

B-74 サル胎仔肺低形成の子宮内回復・羊水過少による肺低形成モデル作成と成長因子解析

千葉敏雄, 佐藤洋明, 柿本隆志, 田辺良子, 山下紘正(成育医療研・臨床研究センター) 所内対応者: 鈴木樹里

今年度は、サル胎仔肺低形成モデルの治療を想定し、妊娠サルの全身麻酔下にバルーンによる胎仔気管閉塞(胎仔内視鏡的)術を行なうための内視鏡デバイス、および、経腹的に胎仔の気管まで安全に内視鏡を誘導するための超音波画像誘導下ナビゲーションシステムの開発を進めた。具体的には、内視鏡画像のハレーションを防止するため、ファイバースコープを挿入する湾曲シース先端に透明のカバーを取り付け、内視鏡の先端部が胎仔口腔内の組織に接触しても視野を失うことの無いよう改良を施した。また、内視鏡の誘導先である胎仔の気管部分を、3D 超音波画像の直交三断面上からターゲットとしてマーキングを行い、医師による内視鏡の操作を直感的に指示するため、ソフトウェアのユーザーインターフェースの拡張を行った。

なお今年度は、内視鏡装置とソフトウェアの開発と、サルの妊娠週齢のタイミングがうまく合わず、前年度のような妊娠サルを用いて行う実験の機会が得られなかった。

今後はサル胎仔肺低形成モデルの作成と並行して、手術場環境にてナビゲーションに用いる磁気式の位置センサにノイズが混じらないような改良を行い、より精度の高い手術操作が行えるようにしていく。